

RESEARCH ARTICLE

Studi *In Silico* Toxicity Stress Response Pathways dan Toxicity Targets Obat Amoxicillin Menggunakan Pendekatan Komputasi

Yuneka Saristiana^{1*}, Fendy Prasetyawan², Ratna Mildawati³, M. Wahyu Ariawan⁴,
Widhi Astutik⁵, Dian Indrayanti⁶

^{1,2,6}Prodi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kediri

³Prodi Farmasi, STIKes Ganesha Husada Kediri

⁴Prodi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman

⁵Prodi D3 Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata

Received: 07 Juli 2026

Revised: 21 Juli 2026

Accepted: 23 Juli 2026

Available Online: 28 Juli 2026

*Correspondence: yuneka@unik-kediri.ac.id

Abstrak

Amoxicillin merupakan antibiotik golongan β -laktam yang banyak digunakan dalam terapi infeksi bakteri karena memiliki efektivitas tinggi dan profil keamanan yang baik. Meskipun demikian, evaluasi potensi toksisitas pada tingkat molekuler tetap diperlukan untuk mendukung penggunaan obat yang lebih aman. Penelitian ini bertujuan menganalisis *toxicity stress response pathways* dan *toxicity targets* amoxicillin menggunakan pendekatan *in silico*. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif berbasis komputasi dengan memanfaatkan platform ProTox 3.0. Struktur kimia amoxicillin diperoleh dari basis data PubChem dalam bentuk Canonical SMILES, kemudian dianalisis menggunakan model prediksi toksisitas ProTox. Hasil penelitian menunjukkan seluruh parameter *toxicity stress response pathways*, yaitu NRF2/ARE, HSE, MMP, p53, dan ATAD5 diprediksi *inactive* dengan probabilitas tinggi (0,96–0,99). Analisis *toxicity targets* mengidentifikasi *amine oxidase A* dan *prostaglandin G/H synthase 1* dengan nilai *average pharmacophore fit* masing-masing sebesar 44,59% dan 65,07%, sedangkan *average similarity to known ligands* menunjukkan nilai 0% pada kedua target. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa amoxicillin memiliki potensi rendah dalam mengaktifkan jalur respons stres seluler maupun berinteraksi dengan target toksisitas berdasarkan prediksi komputasi. Penelitian ini memberikan informasi awal mengenai profil keamanan molekuler amoxicillin yang masih memerlukan validasi melalui penelitian eksperimental.

Kata Kunci: Amoxicillin, *In silico*, ProTox 3.0, *Toxicity stress response pathways*, *Toxicity targets*.

In Silico Study of the Toxicity Stress Response Pathways and Toxicity Targets of Amoxicillin Using a Computational Approach

Abstract

Amoxicillin is a widely prescribed β -lactam antibiotic due to its broad-spectrum antibacterial activity and favorable safety profile. Nevertheless, molecular toxicity assessment remains essential to support safer drug utilization. This study aimed to investigate the toxicity stress response pathways and toxicity targets of amoxicillin using an *in silico* computational approach. This descriptive quantitative study employed ProTox 3.0 as the primary toxicity prediction platform. The chemical structure of amoxicillin was obtained from the PubChem database in Canonical SMILES format and subsequently analyzed using ProTox predictive models. The results demonstrated that all evaluated toxicity stress response pathways, including NRF2/ARE, HSE, MMP, p53, and ATAD5, were predicted to be Inactive with high probability values ranging from 0.96 to 0.99. Analysis of toxicity targets identified amine oxidase A and Prostaglandin G/H synthase 1, with average pharmacophore fit values of 44.59% and 65.07%, respectively, while both targets exhibited 0% average similarity to known ligands. These findings suggest that amoxicillin has a low potential to activate cellular stress response pathways or interact with toxicity-related biological targets according to computational prediction. This study provides preliminary evidence supporting the favorable molecular safety profile of amoxicillin, although further *in vitro*, *in vivo*, and clinical validation is required.

Keywords: Amoxicillin, *In silico*, ProTox 3.0, *Toxicity stress response pathways*, *Toxicity targets*.

PENDAHULUAN

Amoxicillin merupakan salah satu antibiotik golongan β -laktam yang paling banyak digunakan dalam praktik klinis untuk mengatasi berbagai infeksi bakteri, baik infeksi saluran pernapasan, saluran kemih, kulit, jaringan lunak, maupun infeksi odontogenic [1]. Antibiotik ini bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri melalui ikatan dengan penicillin-binding proteins (PBPs), sehingga menyebabkan lisis dan kematian sel bakteri [2]. Efektivitas, spektrum aktivitas yang luas, harga yang relatif terjangkau, serta profil keamanan yang baik menjadikan amoxicillin sebagai salah satu antibiotik lini pertama yang direkomendasikan dalam berbagai pedoman terapi [3]. Penggunaannya yang sangat luas di fasilitas pelayanan kesehatan maupun dalam praktik swamedikasi menyebabkan paparan amoxicillin pada masyarakat terus meningkat dari tahun ke tahun [4].

Meskipun secara umum amoxicillin dikenal memiliki tingkat keamanan yang baik, berbagai laporan menunjukkan bahwa penggunaan obat ini tetap berpotensi menimbulkan efek samping, mulai dari reaksi ringan hingga reaksi berat yang dapat mengancam keselamatan pasien [5]. Efek samping yang sering dilaporkan meliputi gangguan saluran cerna, mual, muntah, diare, ruam kulit, urtikaria, dan reaksi hipersensitivitas [6]. Pada kondisi tertentu, penggunaan amoxicillin juga dikaitkan dengan terjadinya hepatotoksitas, nefrotoksitas, perubahan hematologi, serta reaksi anafilaksis pada individu yang memiliki riwayat alergi terhadap antibiotik β -laktam [7]. Penggunaan jangka panjang maupun dosis tinggi dapat meningkatkan risiko gangguan mikrobiota usus yang berimplikasi terhadap munculnya infeksi oportunistik maupun resistensi antimikroba [8].

Evaluasi keamanan obat menjadi salah satu tahapan yang sangat penting dalam proses pengembangan maupun penggunaan obat di Masyarakat [9]. Identifikasi efek toksik suatu obat umumnya dilakukan melalui penelitian *in vitro*, penelitian *in vivo* menggunakan hewan percobaan, serta uji klinis pada manusia [10]. Pendekatan tersebut memerlukan biaya yang besar, waktu penelitian yang panjang, serta menghadapi berbagai keterbatasan etika [11]. Efek toksik dapat terdeteksi selama fase pengembangan obat karena beberapa toksisitas baru muncul setelah penggunaan luas di populasi [12]. Metode alternatif yang mampu memberikan prediksi awal mengenai potensi toksisitas suatu senyawa secara cepat, efisien, dan ekonomis [13].

Perkembangan ilmu bioinformatika dan komputasi telah menghasilkan berbagai metode prediksi toksisitas berbasis *in silico* yang mampu mengevaluasi hubungan antara struktur kimia suatu senyawa dengan kemungkinan aktivitas biologis maupun efek toksiknya [14]. Pendekatan ini memanfaatkan algoritma *machine learning*, *quantitative structure-activity relationship* (QSAR), serta basis data senyawa yang telah diketahui karakteristik biologinya [14]. Metode *in silico* memungkinkan peneliti memperoleh gambaran awal mengenai profil keamanan suatu obat sebelum dilakukan pengujian eksperimental yang lebih kompleks [15]. Selain mempercepat proses penelitian, pendekatan komputasi juga mendukung konsep 3R (*replacement*, *reduction*, dan *refinement*) dalam penelitian biomedis melalui pengurangan penggunaan hewan uji [16].

Salah satu aspek penting dalam kajian toksisitas modern adalah identifikasi *toxicity stress response pathways* [17]. Jalur respons stres merupakan mekanisme biologis yang diaktifkan ketika sel mengalami paparan senyawa asing, stres oksidatif, kerusakan DNA, gangguan protein, maupun perubahan fungsi organel [18]. Aktivasi jalur-jalur tersebut mencerminkan respons adaptif maupun patologis sel terhadap paparan suatu obat [19]. Analisis terhadap *toxicity stress response pathways* memberikan informasi mengenai kemungkinan mekanisme molekuler yang mendasari munculnya efek toksik sehingga dapat menjadi dasar dalam memahami hubungan antara struktur senyawa dengan perubahan biologis yang ditimbulkannya [20].

Selain mengevaluasi jalur respons stres, identifikasi *toxicity targets* juga menjadi komponen penting dalam penilaian keamanan obat [21]. *Toxicity targets* merupakan protein, enzim, reseptor, atau molekul biologis lain yang berpotensi berinteraksi dengan suatu senyawa sehingga memicu terjadinya efek toksik [22]. Identifikasi target-target tersebut memungkinkan peneliti mengetahui organ atau sistem biologis yang berpotensi terdampak, sekaligus memberikan gambaran mengenai mekanisme toksisitas pada tingkat molekuler [23]. Informasi mengenai target toksisitas sangat bermanfaat dalam pengembangan obat yang lebih aman, optimalisasi dosis terapi, serta penyusunan strategi pemantauan efek samping pada pasien [24].

Dalam beberapa tahun terakhir, berbagai platform prediksi toksisitas berbasis komputasi telah dikembangkan untuk mengidentifikasi *toxicity stress response pathways* maupun *toxicity targets* [25]. Platform tersebut mampu menghasilkan prediksi berdasarkan kemiripan struktur molekul dengan senyawa yang telah memiliki data toksikologi, sehingga memungkinkan identifikasi potensi toksisitas secara lebih cepat dibandingkan metode konvensional [26]. Hasil prediksi ini tidak dimaksudkan untuk menggantikan penelitian eksperimental, melainkan sebagai alat skrining awal (*early toxicity screening*) yang membantu peneliti menentukan prioritas penelitian lanjutan [27].

Meskipun amoxicillin telah digunakan secara luas selama puluhan tahun, penelitian yang secara khusus mengevaluasi profil *toxicity stress response pathways* dan *toxicity targets* menggunakan pendekatan *in silico* masih relatif terbatas [28]. Sebagian besar penelitian mengenai amoxicillin lebih berfokus pada efektivitas antimikroba, resistensi bakteri, farmakokinetika, maupun evaluasi klinis [29]. Kajian komputasi yang mengeksplorasi mekanisme molekuler toksisitas secara komprehensif masih belum banyak dilaporkan, padahal informasi tersebut dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai potensi risiko keamanan obat pada tingkat molekuler [30].

Pendekatan komputasi juga memiliki nilai strategis dalam mendukung pengembangan ilmu farmasi modern yang mengintegrasikan bioinformatika, toksikologi prediktif, serta farmakologi molekuler [31]. Dengan memanfaatkan data struktur kimia amoxicillin dan perangkat lunak prediksi toksisitas, peneliti dapat mengidentifikasi jalur respons stres yang berpotensi diaktifkan serta target-target biologis yang mungkin terlibat dalam mekanisme toksisitas [32]. Informasi tersebut dapat menjadi dasar bagi penelitian eksperimental berikutnya, termasuk validasi menggunakan kultur sel, model hewan, maupun studi klinis [33].

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi ilmiah terhadap pengembangan metode skrining keamanan obat berbasis *in silico*, khususnya pada antibiotik β -laktam [34]. Selain memperkaya informasi mengenai profil toksisitas amoxicillin, penelitian ini juga dapat menjadi referensi bagi akademisi, peneliti, tenaga kefarmasian, serta industri farmasi dalam memahami mekanisme toksisitas pada tingkat molekuler [35]. Dengan demikian, penelitian mengenai Studi *in silico toxicity stress response pathways* dan *toxicity targets* Obat Amoxicillin Menggunakan Pendekatan Komputasi diharapkan mampu memberikan dasar ilmiah yang lebih kuat dalam evaluasi keamanan obat, mendukung pengembangan terapi yang lebih aman, serta menjadi acuan bagi penelitian lanjutan di bidang toksikologi komputasi dan farmasi molekuler [36].

BAHAN DAN METODE

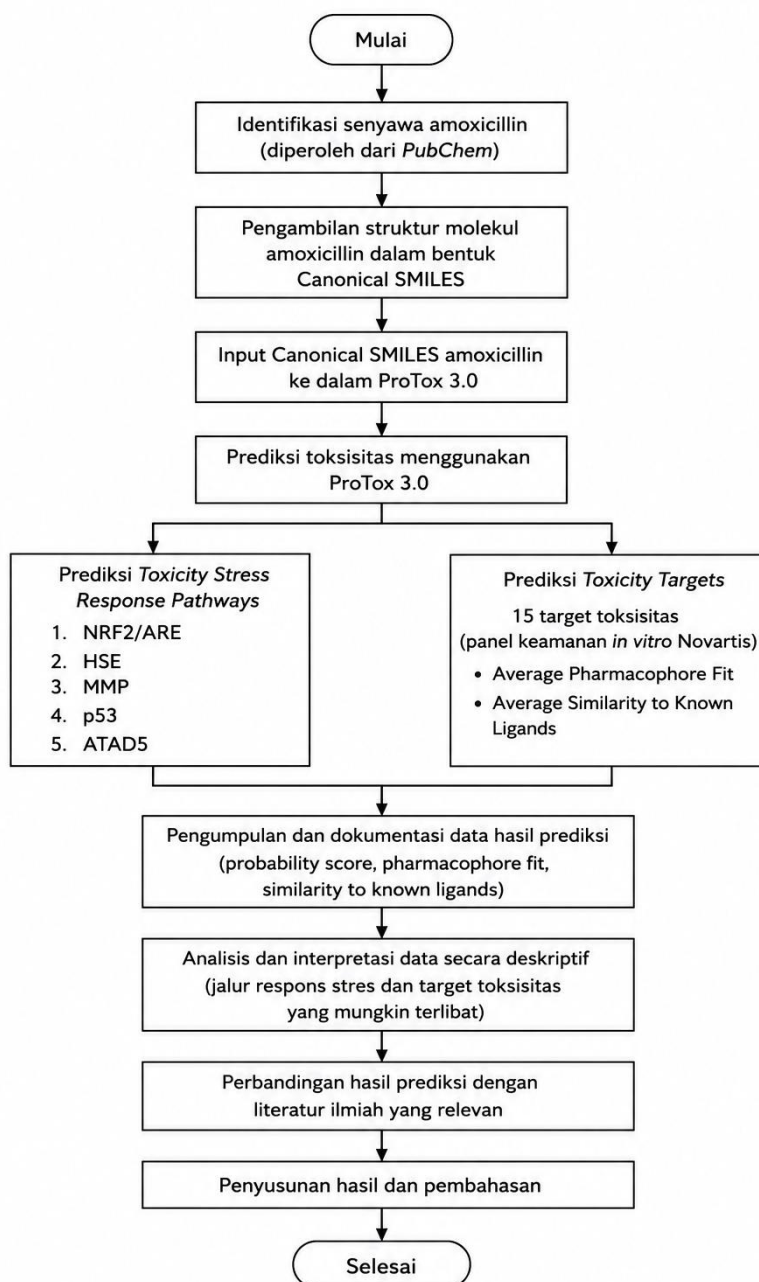
Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif deskriptif dengan pendekatan *in silico* yang bertujuan untuk memprediksi profil toksisitas senyawa amoxicillin melalui analisis *toxicity stress response pathways* dan *toxicity targets* menggunakan platform ProTox 3.0. Pendekatan *in silico* dipilih karena mampu memberikan informasi awal mengenai mekanisme toksisitas suatu senyawa secara cepat, efisien, serta ekonomis tanpa memerlukan pengujian laboratorium maupun penggunaan hewan percobaan. Metode ini memanfaatkan algoritma *machine learning*, analisis kemiripan struktur molekuler (*molecular similarity*), *pharmacophore mapping*, serta basis data toksikologi yang telah tervalidasi untuk menghasilkan prediksi berbagai parameter toksisitas berdasarkan struktur kimia senyawa. ProTox 3.0 merupakan salah satu platform prediksi toksisitas komputasi yang menyediakan lebih dari 60 model prediksi meliputi toksisitas akut, toksisitas organ, *toxicological endpoints*, *molecular initiating events*, metabolisme, *toxicity stress response pathways*, serta *toxicity targets*.

Objek penelitian berupa senyawa amoxicillin yang dipilih karena merupakan antibiotik β -laktam yang paling luas digunakan dalam terapi infeksi bakteri. Struktur kimia amoxicillin diperoleh dari basis data kimia publik yang memiliki validitas tinggi, yaitu PubChem, dalam bentuk *Canonical SMILES* sebagai representasi dua dimensi molekul. Format SMILES dipilih karena merupakan format standar yang digunakan oleh ProTox 3.0 dalam melakukan identifikasi struktur kimia dan menghasilkan prediksi toksisitas berdasarkan karakteristik molekuler senyawa. Sebelum dilakukan analisis, struktur kimia diverifikasi kembali untuk memastikan kesesuaian identitas senyawa sehingga tidak terjadi kesalahan interpretasi selama proses prediksi.

Tahap penelitian diawali dengan identifikasi struktur molekuler amoxicillin menggunakan data *Canonical SMILES*. Struktur tersebut kemudian dimasukkan ke dalam antarmuka ProTox 3.0 melalui fasilitas prediksi daring. Proses prediksi dilakukan menggunakan seluruh model yang berkaitan dengan mekanisme toksisitas, namun penelitian ini hanya memfokuskan analisis pada dua kelompok parameter utama, yaitu *toxicity stress response pathways* dan *toxicity targets*. Seluruh proses analisis dilakukan secara otomatis oleh sistem ProTox 3.0 yang mengintegrasikan pendekatan *molecular similarity*, *fragment propensity*, *pharmacophore-based prediction*, serta model *machine learning* yang telah dilatih menggunakan berbagai basis data toksikologi eksperimental.

Analisis *toxicity stress response pathways* dilakukan untuk mengevaluasi kemungkinan aktivasi jalur respons stres seluler akibat paparan amoxicillin. Jalur yang dianalisis meliputi *nuclear factor erythroid 2-related factor 2/antioxidant response element* (NRF2/ARE), *heat shock factor response element* (HSE), *mitochondrial membrane potential* (MMP), *tumor suppressor p53*, serta *ATPase family AAA domain-containing protein 5* (ATAD5). Kelima jalur tersebut merupakan bagian dari panel Tox21 yang banyak digunakan dalam evaluasi toksisitas berbasis *adverse outcome pathways* (AOP). ProTox menghasilkan prediksi dalam bentuk klasifikasi *active* atau *inactive* yang disertai nilai probabilitas (*probability score*). Nilai probabilitas mendekati 1 menunjukkan tingkat keyakinan model yang lebih tinggi terhadap hasil prediksi, sedangkan nilai yang lebih rendah menunjukkan tingkat keyakinan yang lebih kecil. Hasil ini

digunakan untuk mengidentifikasi jalur respons stres yang berpotensi diaktifkan oleh amoxicillin pada tingkat molekuler.



Gambar 1. Alur Penelitian

Selanjutnya dilakukan analisis *toxicity targets* untuk mengidentifikasi protein, enzim, reseptor, maupun target biologis lain yang diprediksi berinteraksi dengan amoxicillin sehingga berpotensi menimbulkan efek toksik. ProTox 3.0 mengevaluasi lima belas target toksisitas yang dikembangkan berdasarkan panel keamanan *in vitro* Novartis. Hasil prediksi ditampilkan dalam bentuk nama target biologis, nilai *average pharmacophore fit*, dan *average similarity to known ligands*. Nilai *average pharmacophore fit* menggambarkan tingkat kesesuaian struktur tiga dimensi senyawa terhadap model farmakofor target, sedangkan *average similarity to known ligands* menunjukkan tingkat kemiripan struktur amoxicillin dengan ligan-ligan yang telah diketahui berinteraksi dengan target tersebut. Kedua parameter tersebut digunakan sebagai indikator awal kemungkinan adanya interaksi molekuler yang berkaitan dengan mekanisme toksisitas.

Data hasil prediksi kemudian didokumentasikan dalam bentuk tabel yang memuat nama jalur respons stres, status prediksi (*active* atau *inactive*), nilai probabilitas, nama target toksisitas, *average pharmacophore fit*, dan *average*

similarity to known ligands. Seluruh data diekspor dari ProTox 3.0 dalam format yang tersedia, kemudian dilakukan proses penyusunan kembali menggunakan perangkat lunak pengolah data seperti *Microsoft Excel* agar memudahkan interpretasi dan penyajian hasil penelitian.

Analisis data dilakukan secara deskriptif dengan membandingkan seluruh nilai probabilitas yang diperoleh pada setiap parameter prediksi. Jalur respons stres dengan status *active* dan probabilitas tinggi diinterpretasikan sebagai jalur biologis yang berpotensi mengalami aktivasi akibat paparan amoxicillin, sedangkan status *inactive* menunjukkan rendahnya kemungkinan aktivasi berdasarkan model prediksi. Pada analisis *toxicity targets*, interpretasi dilakukan berdasarkan besarnya nilai *average pharmacophore fit* dan *average similarity to known ligands*. Semakin tinggi kedua nilai tersebut, semakin besar kemungkinan terjadinya interaksi antara amoxicillin dengan target biologis yang dianalisis sehingga dapat menjadi indikasi awal adanya mekanisme toksisitas pada tingkat molekuler. Interpretasi hasil tidak dimaksudkan sebagai bukti biologis secara langsung, tetapi sebagai hipotesis awal yang memerlukan validasi melalui penelitian *in vitro* maupun *in vivo*.

Untuk meningkatkan validitas ilmiah penelitian, seluruh hasil prediksi dibandingkan dengan informasi toksisitas amoxicillin yang telah dipublikasikan dalam literatur ilmiah. Pendekatan ini dilakukan untuk mengetahui kesesuaian antara prediksi komputasi dengan bukti eksperimental yang telah tersedia serta memberikan interpretasi biologis terhadap jalur respons stres maupun target toksisitas yang diprediksi. Dengan demikian, hasil penelitian tidak hanya menggambarkan keluaran perangkat lunak, tetapi juga memberikan penjelasan ilmiah mengenai kemungkinan mekanisme toksisitas amoxicillin berdasarkan pendekatan toksikologi komputasi.

Penelitian ini tidak melibatkan subjek manusia maupun hewan percobaan sehingga tidak memerlukan persetujuan etik penelitian. Seluruh data yang digunakan merupakan data sekunder berupa struktur kimia amoxicillin yang tersedia secara terbuka pada basis data kimia publik dan dianalisis menggunakan ProTox 3.0 sebagai perangkat prediksi toksisitas berbasis *machine learning*. Penelitian ini memenuhi prinsip *replacement* dalam konsep 3R (*replacement, reduction, dan refinement*) dengan memanfaatkan pendekatan komputasi sebagai alternatif awal untuk mengevaluasi profil keamanan suatu senyawa sebelum dilakukan pengujian eksperimental lebih lanjut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Toxicity Stress Response Pathways Amoxicillin

Prediksi *toxicity stress response pathways* dilakukan menggunakan platform ProTox 3.0 untuk mengevaluasi potensi aktivasi jalur respons stres seluler akibat paparan amoxicillin. Analisis ini bertujuan mengidentifikasi kemungkinan terjadinya gangguan biologis pada tingkat molekuler yang dapat memicu berbagai mekanisme toksisitas, seperti stres oksidatif, kerusakan DNA, disfungsi mitokondria, maupun gangguan homeostasis protein. Hasil prediksi disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil prediksi *toxicity stress response pathways* amoxicillin menggunakan ProTox 3.0

Klasifikasi	Target	Prediksi	Probabilitas
Tox21-stress response	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (NRF2/ ARE)	Inactive	0,99
	Heat shock factor response element (HSE)	Inactive	0,99
	Mitochondrial membrane potential (MMP)	Inactive	0,96
	Phosphoprotein (tumor suppressor) p53	Inactive	0,99
	ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)	Inactive	0,99

Berdasarkan hasil prediksi pada **Tabel 1**, seluruh parameter *toxicity stress response pathways* menunjukkan status *inactive* dengan nilai probabilitas yang sangat tinggi, yaitu berkisar antara 0,96–0,99. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa amoxicillin memiliki kemungkinan yang sangat rendah untuk mengaktifkan jalur respons stres seluler yang dianalisis oleh model Tox21. Tingginya nilai probabilitas menunjukkan tingkat keyakinan model ProTox 3.0 terhadap klasifikasi *inactive*, sehingga hasil prediksi ini memberikan indikasi awal bahwa amoxicillin tidak berpotensi menimbulkan gangguan toksik melalui mekanisme respons stres pada kondisi yang dievaluasi.

Jalur NRF2/ARE (*nuclear factor erythroid 2-related factor 2/antioxidant response element*) merupakan regulator utama sistem pertahanan antioksidan sel terhadap peningkatan *reactive oxygen species* (ROS). Aktivasi jalur ini umumnya terjadi ketika sel mengalami stres oksidatif akibat paparan xenobiotik atau senyawa toksik. Pada penelitian ini diperoleh status *inactive* dengan probabilitas sebesar 0,99, yang menunjukkan bahwa amoxicillin diprediksi tidak menginduksi aktivasi NRF2/ARE. Temuan ini mengindikasikan bahwa struktur molekul amoxicillin tidak memiliki kecenderungan kuat untuk memicu stres oksidatif yang cukup signifikan hingga mengaktifkan mekanisme

pertahanan antioksidan sel. Hasil tersebut sejalan dengan profil keamanan amoxicillin yang selama ini dikenal memiliki risiko stres oksidatif relatif rendah dibandingkan beberapa antibiotik lain, seperti aminoglikosida atau fluorokuinolon.

Jalur *heat shock factor response element* (HSE) berperan dalam mengatur ekspresi protein *heat shock* yang berfungsi menjaga stabilitas protein ketika sel mengalami stres akibat panas, bahan kimia, maupun akumulasi protein yang mengalami salah lipat (*misfolded proteins*). Prediksi *inactive* dengan probabilitas 0,99 menunjukkan bahwa amoxicillin diperkirakan tidak menyebabkan gangguan proteostasis yang cukup besar untuk mengaktifasi respons *heat shock*. Dengan demikian, interaksi amoxicillin terhadap sistem homeostasis protein diprediksi sangat minimal sehingga risiko terjadinya kerusakan protein akibat paparan obat ini relatif rendah.

Parameter *mitochondrial membrane potential* (MMP) digunakan untuk mengevaluasi kemungkinan gangguan fungsi mitokondria yang merupakan organel utama penghasil energi sel. Penurunan potensial membran mitokondria sering dikaitkan dengan peningkatan pembentukan ROS, gangguan produksi ATP, serta inisiasi apoptosis. Pada penelitian ini, MMP diprediksi *inactive* dengan probabilitas 0,96. Walaupun nilai probabilitasnya sedikit lebih rendah dibandingkan parameter lainnya, angka tersebut tetap menunjukkan tingkat keyakinan model yang tinggi bahwa amoxicillin tidak menyebabkan depolarisasi membran mitokondria secara bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan amoxicillin diperkirakan tidak berhubungan dengan disfungsi mitokondria sebagai mekanisme utama toksisitasnya.

Hasil prediksi pada jalur *tumor suppressor* p53 juga menunjukkan status *inactive* dengan probabilitas 0,99. Protein p53 merupakan regulator penting dalam menjaga stabilitas genom melalui pengendalian siklus sel, perbaikan DNA, dan induksi apoptosis ketika terjadi kerusakan genetik. Aktivasi jalur p53 biasanya terjadi apabila suatu senyawa menyebabkan kerusakan DNA atau tekanan genotoksik yang cukup besar. Prediksi tidak aktif pada penelitian ini mengindikasikan bahwa amoxicillin memiliki kemungkinan yang sangat rendah untuk menginduksi kerusakan DNA yang dapat memicu aktivasi protein p53. Hasil ini mendukung berbagai laporan bahwa amoxicillin bukan termasuk senyawa yang memiliki potensi genotoksik tinggi pada penggunaan terapeutik.

Jalur terakhir yang dianalisis adalah *ATPase family AAA domain-containing protein 5* (ATAD5). Protein ATAD5 berperan dalam proses replikasi DNA, perbaikan genom, serta menjaga stabilitas kromosom. Aktivasi jalur ini sering digunakan sebagai indikator adanya kerusakan DNA maupun stres replikasi. Pada penelitian ini diperoleh prediksi *inactive* dengan probabilitas 0,99, yang menunjukkan bahwa amoxicillin diperkirakan tidak menyebabkan gangguan replikasi DNA maupun instabilitas genom melalui mekanisme yang dimediasi ATAD5. Dengan demikian, risiko terjadinya toksisitas genetik berdasarkan parameter ini relatif rendah.

Secara keseluruhan, seluruh parameter *toxicity stress response pathways* menunjukkan hasil yang konsisten, yaitu *inactive* dengan probabilitas yang sangat tinggi. Konsistensi hasil tersebut memperkuat dugaan bahwa amoxicillin memiliki profil keamanan molekuler yang baik berdasarkan mekanisme respons stres seluler yang dievaluasi dalam panel Tox21. Tidak ditemukannya aktivasi pada jalur NRF2/ARE, HSE, MMP, p53, maupun ATAD5 menunjukkan bahwa amoxicillin diprediksi tidak memicu stres oksidatif, gangguan fungsi mitokondria, kerusakan protein, maupun kerusakan DNA sebagai mekanisme utama toksisitasnya.

Temuan penelitian ini juga sesuai dengan karakteristik farmakologis amoxicillin yang telah lama digunakan secara luas dalam praktik klinis dan dikenal memiliki indeks terapi yang relatif tinggi. Walaupun demikian, hasil prediksi komputasi ini tidak dapat diartikan bahwa amoxicillin sepenuhnya bebas dari efek samping. Reaksi hipersensitivitas, gangguan gastrointestinal, hepatotoksitas idiosinkratik, maupun nefritis interstisial yang dilaporkan pada penggunaan klinis umumnya merupakan respons imunologis atau reaksi idiosinkratik yang tidak selalu dapat diprediksi melalui model *toxicity stress response pathways*. Oleh karena itu, hasil penelitian ini sebaiknya dipandang sebagai gambaran awal mengenai keamanan molekuler amoxicillin dan tetap memerlukan validasi melalui penelitian *in vitro*, *in vivo*, maupun data farmakovigilans pada populasi manusia.

Secara keseluruhan, hasil prediksi menggunakan ProTox 3.0 menunjukkan bahwa amoxicillin memiliki potensi yang sangat rendah dalam mengaktifasi jalur-jalur utama respons stres seluler. Temuan ini mendukung penggunaan amoxicillin sebagai antibiotik dengan profil keamanan yang baik apabila digunakan sesuai indikasi, dosis terapi, dan pemantauan klinis yang tepat. Hasil penelitian ini memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan studi lanjutan mengenai mekanisme toksisitas antibiotik menggunakan pendekatan toksikologi komputasi sebagai metode skrining awal sebelum dilakukan pengujian eksperimental.

Toxicity Targets Amoxicillin

Selain mengevaluasi *toxicity stress response pathways*, penelitian ini juga menganalisis *toxicity targets* menggunakan platform ProTox 3.0. Analisis ini bertujuan untuk mengidentifikasi protein atau target biologis yang berpotensi berinteraksi dengan amoxicillin berdasarkan pendekatan farmakofor (*pharmacophore mapping*) dan

kemiripan struktur terhadap ligan yang telah diketahui (*known ligands*). Hasil prediksi ini memberikan gambaran awal mengenai kemungkinan mekanisme toksisitas pada tingkat molekuler yang dapat digunakan sebagai dasar penelitian lanjutan.

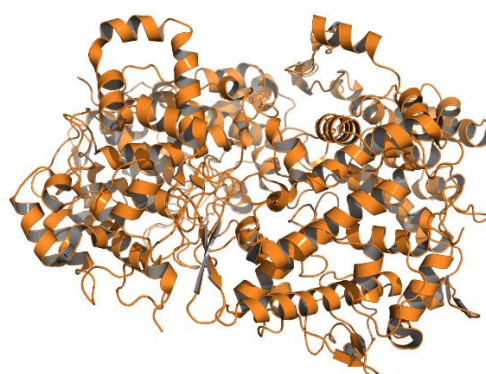
Tabel 2. Hasil prediksi *toxicity targets* amoxicillin menggunakan ProTox 3.0

<i>Toxicity target</i>	<i>Average pharmacophore fit</i>	<i>Average similarity to known ligands</i>
<i>Amine oxidase A</i>	44,59%	0%
<i>Prostaglandin G/H synthase 1</i>	65,07%	0%

Berdasarkan **Tabel 2**, ProTox 3.0 memprediksi dua target biologis yang memiliki kemungkinan berinteraksi dengan amoxicillin, yaitu *amine oxidase A* dan *prostaglandin G/H synthase 1*. Kedua target tersebut diidentifikasi berdasarkan kecocokan struktur farmakofor (*average pharmacophore fit*), sedangkan nilai *average similarity to known ligands* menunjukkan kemiripan struktur amoxicillin dengan ligan yang telah diketahui berinteraksi terhadap target tersebut.



Amine oxidase A



Prostaglandin G/H synthase 1

Gambar 2. Struktur *amine oxidase A* dan *prostaglandin G/H synthase 1*

Target pertama yang diprediksi adalah *amine oxidase A* dengan nilai *average pharmacophore fit* sebesar 44,59% dan *average similarity to known ligands* sebesar 0%. *Amine oxidase A* merupakan enzim yang berperan dalam metabolisme berbagai monoamin biologis, termasuk serotonin, norepinefrin, dan dopamin melalui proses deaminasi oksidatif. Enzim ini memiliki peran penting dalam regulasi neurotransmitter pada sistem saraf pusat serta berbagai proses fisiologis lainnya. Nilai *pharmacophore fit* sebesar 44,59% menunjukkan adanya tingkat kecocokan spasial antara struktur amoxicillin dengan model farmakofor enzim tersebut, namun nilai tersebut masih berada pada kategori sedang. Di sisi lain, nilai *average similarity to known ligands* sebesar 0% menunjukkan bahwa struktur kimia amoxicillin tidak memiliki kemiripan yang signifikan dengan ligan-ligan yang telah diketahui berikatan secara spesifik dengan *amine oxidase A*. Dengan demikian, kemungkinan interaksi biologis secara langsung terhadap target ini diperkirakan rendah dan belum dapat dijadikan sebagai indikator kuat adanya mekanisme toksisitas melalui inhibisi maupun aktivasi enzim tersebut.

Target kedua yang teridentifikasi adalah *prostaglandin G/H synthase 1* (PGHS-1 atau *cyclooxygenase-1/COX-1*) dengan nilai *average pharmacophore fit* sebesar 65,07% dan *average similarity to known ligands* sebesar 0%. Dibandingkan target sebelumnya, nilai *pharmacophore fit* terhadap PGHS-1 lebih tinggi, yang menunjukkan bahwa konfigurasi tiga dimensi amoxicillin memiliki kecocokan yang lebih baik terhadap model farmakofor target tersebut. PGHS-1 merupakan enzim penting dalam biosintesis prostaglandin yang berfungsi mempertahankan integritas mukosa lambung, regulasi aliran darah ginjal, serta agregasi trombosit. Gangguan terhadap aktivitas enzim ini sering dikaitkan dengan efek samping gastrointestinal maupun gangguan fungsi ginjal pada beberapa golongan obat, terutama obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS).

Meskipun nilai *average pharmacophore fit* terhadap *prostaglandin G/H synthase 1* relatif lebih tinggi dibandingkan *amine oxidase A*, nilai *average similarity to known ligands* tetap menunjukkan 0%. Hal tersebut mengindikasikan bahwa meskipun terdapat kemiripan spasial terhadap model farmakofor, struktur kimia amoxicillin tidak menyerupai ligan-ligan khas yang diketahui memiliki afinitas tinggi terhadap PGHS-1. Kemungkinan interaksi biologis yang bermakna terhadap target ini diperkirakan masih rendah. Hasil tersebut juga sesuai dengan mekanisme kerja farmakologis

amoxicillin yang tidak bekerja melalui penghambatan enzim siklooksigenase, melainkan melalui penghambatan sintesis dinding sel bakteri dengan berikatan pada *penicillin-binding proteins* (PBPs).

Hasil prediksi *toxicity targets* menunjukkan bahwa amoxicillin memiliki tingkat kecocokan farmakofor sedang terhadap dua target biologis, yaitu *amine oxidase A* dan *prostaglandin G/H synthase 1*, namun keduanya memiliki *average similarity to known ligands* sebesar 0%. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa struktur amoxicillin tidak memiliki kemiripan dengan ligan toksik yang telah diketahui pada kedua target tersebut, sehingga kemungkinan interaksi molekuler yang berpotensi menimbulkan toksisitas diperkirakan rendah.

Temuan ini sejalan dengan hasil analisis *toxicity stress response pathways*, yang juga menunjukkan tidak adanya aktivasi jalur respons stres seluler. Kombinasi kedua hasil tersebut memberikan gambaran bahwa amoxicillin memiliki profil keamanan molekuler yang baik berdasarkan pendekatan prediksi komputasi ProTox 3.0. Meskipun demikian, hasil ini tetap harus ditafsirkan secara hati-hati karena prediksi *in silico* hanya menggambarkan potensi interaksi berdasarkan model komputasi dan belum dapat menggantikan bukti biologis yang diperoleh melalui penelitian *in vitro*, *in vivo*, maupun studi klinis. Validasi eksperimental tetap diperlukan untuk memastikan signifikansi biologis dari target-target yang diprediksi dalam penelitian ini.

KESIMPULAN

Amoxicillin memiliki profil keamanan molekuler yang baik berdasarkan hasil prediksi menggunakan ProTox 3.0. Seluruh parameter *toxicity stress response pathways*, yaitu NRF2/ARE, HSE, MMP, p53, dan ATAD5, diprediksi Inactive dengan nilai probabilitas yang tinggi (0,96–0,99), sehingga mengindikasikan bahwa amoxicillin memiliki potensi yang rendah dalam mengaktivasi jalur respons stres seluler yang berkaitan dengan stres oksidatif, gangguan fungsi mitokondria, kerusakan protein, maupun kerusakan DNA. Analisis *toxicity targets* mengidentifikasi *amine oxidase A* dan *prostaglandin G/H synthase 1* sebagai target biologis dengan tingkat *Average Pharmacophore Fit* sedang, namun keduanya memiliki *average similarity to known ligands* sebesar 0%, yang menunjukkan rendahnya kemungkinan interaksi toksik secara langsung. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini mendukung bahwa amoxicillin memiliki potensi toksisitas molekuler yang relatif rendah berdasarkan pendekatan komputasi, meskipun hasil prediksi ini tetap memerlukan validasi lebih lanjut melalui penelitian *in vitro*, *in vivo*, dan studi klinis untuk mengonfirmasi signifikansi biologisnya.

Kontribusi Penulis: Y.S., berperan sebagai konseptor utama penelitian, penyusun metodologi, analisis data, dan penulis naskah. F.P., berkontribusi pada desain penelitian, interpretasi hasil, dan penyuntingan artikel. R.M., M.W.A., W.A., serta D.I., berperan dalam pengumpulan data, validasi hasil, telaah pustaka, dan revisi akhir naskah. Seluruh penulis menyetujui versi final artikel.

Pendanaan: Penelitian ini didanai secara mandiri oleh seluruh tim peneliti tanpa memperoleh dukungan finansial dari lembaga pemerintah, institusi swasta, organisasi, maupun sponsor lainnya. Seluruh biaya yang berkaitan dengan pelaksanaan penelitian, analisis data, penyusunan naskah, hingga proses publikasi menjadi tanggung jawab penulis secara independen.

Ucapan Terima Kasih: Penulis menyampaikan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah memberikan dukungan selama pelaksanaan penelitian, baik berupa masukan ilmiah, fasilitas, maupun motivasi. Apresiasi juga disampaikan kepada pengembang platform ProTox yang menyediakan layanan prediksi toksisitas sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

Konflik kepentingan: Seluruh penulis menyatakan bahwa penelitian ini dilaksanakan tanpa adanya konflik kepentingan, baik yang bersifat finansial maupun nonfinansial. Penulis tidak memiliki hubungan dengan pihak mana pun yang dapat memengaruhi proses penelitian, analisis data, interpretasi hasil, maupun penyusunan dan publikasi naskah ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mahmoudi H, Karimian R, Omid M, Ramezani A, Taheri M. Drug discovery in the field of β -lactams: an academic perspective. *Antibiotics*. 2024;13(1):59. <https://doi.org/10.3390/antibiotics130100592>.

2. Shaeer J, Belagodu Sridhar S, Mohamed Saeed Z, Alsereidi AMR. Balancing pain relief and safety: gastrointestinal and cardiovascular risk assessment in nonsteroidal anti-inflammatory drug users and the role of gastroprotective co-therapy. *Pharmaceuticals*. 2026;19(1):67. <https://doi.org/10.3390/ph190100673>.
3. Halawa MR, Fadel M, Al-Rabia MW, Behairy A, Nough NA, Abdo M, et al. Antibiotic action and resistance: updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. *Front Pharmacol*. 2024;14:1305294. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1305294>.
4. Tamura J, Terao T, Mori M, Nishimura K, Shinmen N, Arai H. Comprehensive analysis of gastrointestinal injury induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs using data from FDA Adverse Event Reporting System database. *Pharmaceuticals*. 2025;18(8):1204. <https://doi.org/10.3390/ph180812045>.
5. Wang Y, Kong Q. A real-world data analysis of piroxicam in the FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) database. *Front Med*. 2025;12:1687088. <https://doi.org/10.3389/fmed.2025.1687088>.
6. Gajjar M, Siddiqui A. Why paracetamol (acetaminophen) is a suitable first choice for treating mild to moderate acute pain in adults with liver, kidney or cardiovascular disease, gastrointestinal disorders, asthma, or who are older. *Curr Med Res Opin*. 2023;39(1):1–12. <https://doi.org/10.1080/03007995.2022.20495517>.
7. Karbownik MS, Dobrowolski P, Malinowski KP. Efficacy and safety of piroxicam revisited: a global meta-analysis of randomised clinical trials. *Rheumatol Int*. 2023;43(5):837–49. <https://doi.org/10.1007/s00296-023-05276-48>.
8. Dhariwal A, Haugli Bråten LC, Sturød K, Salvadori G, Bargheet A, Åmdal H, et al. Differential response to prolonged amoxicillin treatment: long-term resilience of the microbiome versus long-lasting perturbations in the gut resistome. *Gut Microbes*. 2023;15(1):2157200. <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.21572009>.
9. Amorim AMB, Piochi LF, Gaspar AT, Preto AJ, Rosário-Ferreira N, Moreira IS. Advancing drug safety in drug development: bridging computational predictions for enhanced toxicity prediction. *Chem Res Toxicol*. 2024;37(6):827–49. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.3c0035210>.
10. Lynch C, Sakamuru S, Huang R, Xia M. High-throughput screening to advance in vitro toxicology: accomplishments, challenges, and future directions. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2024;64:191–209. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-112122-10431011>.
11. Madden JC, Pawar G, Cronin MTD, et al. Advancing human health risk assessment: the role of new approach methodologies. *Front Toxicol*. 2025;7:1632941. <https://doi.org/10.3389/ftox.2025.163294112>.
12. Bai H, Ma T, Ma R, Li J, Wang Y, Zhou P, et al. Machine learning-enabled drug-induced toxicity prediction. *Adv Sci*. 2025;12(22):e2413405. <https://doi.org/10.1002/advs.20241340513>.
13. Masarone S, Beckwith KV, Wilkinson MR, Tuli S, Lane A, Windsor S, et al. Advancing predictive toxicology: overcoming hurdles and shaping the future. *Digit Discov*. 2025;4:303–15. <https://doi.org/10.1039/D4DD00257A14>.
14. Vasava P, Pérez-Santín E, Rodríguez Solana R, et al. Toxicity prediction based on artificial intelligence: a review. *Drug Discov Today*. 2023;28(7):103372. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.10337215>.
15. Zhang J, Li H, Zhang Y, Huang J, Ren L, Zhang C, et al. Computational toxicology in drug discovery: applications of artificial intelligence in ADMET and toxicity prediction. *Brief Bioinform*. 2025;26(5):bbaf533. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaf53316>.
16. Poh WT, Chong RCX. The new paradigm in animal testing - "3Rs alternatives". *Regul Toxicol Pharmacol*. 2024;153:105705. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2024.10570517>.
17. Flynn NR, Miller GP, Swamidass SJ. Advancements in computational studies of drug toxicity. *Front Pharmacol*. 2023;14:1230409. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.123040918>.
18. Xue Z, Zhang X, Liu Y, Chen Y, Li H, Sun X, et al. Molecular mechanisms underlying mitochondrial damage, endoplasmic reticulum stress, and oxidative stress induced by environmental pollutants. *Toxicol Res*. 2023;12(6):964–78. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfad10219>.
19. Jeong J, Gasparyan M, Choi J. Advancing the quantitative understanding of adverse outcome pathways: current status, methodologies, and future directions. *Environ Toxicol Chem*. 2025;44(3):614–23. <https://doi.org/10.1093/etoinl/vgae06320>.
20. Roman DL, Roman M, Isvoran A. Computational assessment of pharmacological profiles and toxicity of bioactive compounds: a comparative study using multiple in silico platforms. *Toxics*. 2024;12(9):621. <https://doi.org/10.3390/toxics1209062121>.
21. Ru J, Sun H, Pan L, Xue Y, Wang J. In silico methods for drug-target interaction prediction. *Cell Rep Methods*. 2025;5(9):101432. <https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2025.10143222>.

22. Gianquinto E, Aldeghi M, Cole DJ, Guedes RC, Wade RC, Cavalli A, et al. Toward integrative predictive toxicology: advanced methods for drug toxicity and safety prediction. *WIREs Comput Mol Sci.* 2026;16(1):e70065. <https://doi.org/10.1002/wcms.7006523>.
23. Braga RC, Alves VM, Muratov EN, Andrade CH, Tropsha A. Machine learning in toxicological sciences: opportunities for assessing drug toxicity. *Front Drug Discov.* 2024;4:1336025. <https://doi.org/10.3389/fddsv.2024.133602524>.
24. Idakwo G, Luo M, Chen M, Hong H, Zhang C. AI-based toxicity prediction in drug discovery: recent advances, challenges, and future perspectives. *J Chem Inf Model.* 2023;63(20):6198–211. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c0020025>.
25. Banerjee P, Kemmler E, Dunkel M, Preissner R. ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res.* 2024;52(W1):W513–20. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae30326>.
26. Fu L, Shi S, Yi J, Wang N, He Y, Wu Z, et al. ADMETlab 3.0: an updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support. *Nucleic Acids Res.* 2024;52(W1):W422–31. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae23627>.
27. Lee H, Kim J, Kim JW, Lee Y. Recent advances in AI-based toxicity prediction for drug discovery. *Front Chem.* 2025;13:1632046. <https://doi.org/10.3389/fchem.2025.163204628>.
28. Kania MK, Zadora PK, Rogala MK. Application of bioinformatics tools in network pharmacology and in silico research: SwissTargetPrediction, PASS Online, STRING, GeneCards, and CTD for anti-inflammatory compound analysis. *Comput Biol Med.* 2025;178:108687. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2025.10868729>.
29. Bisht A, Avula SK, Sharma A, et al. QSAR-based virtual screening and machine learning for prediction of chemical toxicity: a comprehensive review. *RSC Adv.* 2024;14(12):8230–50. <https://doi.org/10.1039/D3RA08230J30>.
30. Jain S, Manganelli S, Gryshkova V, Rodrigues MA, Magarkar A. Methods in predictive toxicology 2023. *Front Pharmacol.* 2025;16:1556352. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.155635231>.
31. Tutone M, Almerico AM. Computational strategies reshaping modern drug discovery. *Molecules.* 2026;31(2):200. <https://doi.org/10.3390/molecules3102020032>.
32. Wu L, Yan B, Han J, Li R, Xiao J, He S, et al. TOXRIC: a comprehensive database of toxicological data and benchmarks. *Nucleic Acids Res.* 2023;51(D1):D1432–45. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac107433>.
33. Gao Y, Guo L, Han Y, Zhang J, Dai Z, Ma S. A combination of in silico ADMET prediction, in vivo toxicity evaluation, and potential mechanism exploration of brucine and brucine N-oxide: a comparative study. *Molecules.* 2023;28(3):1341. <https://doi.org/10.3390/molecules2803134134>.
34. Ferreira FJN, Carneiro AS. AI-driven drug discovery: a comprehensive review. *ACS Omega.* 2025;10(23):23889–903. <https://doi.org/10.1021/acsomega.5c0054935>.
35. Tsymbal A, Sotnikov A, Tkachenko V, Oliinyk Y, Kovalishyn V, Kopach M, et al. The role of machine learning in predictive toxicology: a review of current trends and future perspectives. *Life Sci.* 2025;374:123669. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2025.12366936>.
36. Marin DE, Taranu I. Using in silico approach for metabolomic and toxicity prediction of alternariol. *Toxins.* 2023;15(7):421. <https://doi.org/10.3390/toxins15070421>